



مقایسه تاکسونومی گونه چَندَل *Rhizophora mucronata* Lam. در ناحیه سیریک استان هرمزگان و مقایسه آن با جمعیت هند بر اساس توالی ژن 18s rDNA

غلامرضا شریفی سیرچی^۱، یحیی اسماعیل پور^{۲*}، مزده رام^۳

^۱ گروه مهندسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان

^۲ گروه مهندسی منابع طبیعی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی و عضو گروه علوم طبیعی و زیست محیطی پژوهشکده منطقه‌ای

جنگل‌های حرا، دانشگاه هرمزگان

^۳ کارشناس مسئول آزمایشگاه ژنتیک، مرکز سنجش اداره کل حفاظت محیط زیست استان هرمزگان

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی	گونه چندل <i>Rhizophora mucronata</i> Lam. از Rhizophoraceae برخلاف حرا که در همه رویشگاه‌های مانگرو شاخاب فارس و دریای عمان دیده می‌شود، فقط در سیریک وجود دارد. در تحقیق حاضر ژن 18s rDNA با هدف بررسی احتمال نقش انسان در معرفی گونه چندل به رویشگاه این منطقه و کمک به تشخیص نقش اکولوژیک آن مورد بررسی قرار گرفت. مناطق جمع‌آوری نمونه‌ها در رویشگاه شامل سه توده تفکیک شده در خورها با فاصله جغرافیایی از یکدیگر بود. در هر توده نمونه‌ها از سه طبقه سنی که بر اساس اندازه درخت مشخص شد برداشت شدند. توالی دو قطعه از ژن 18s rRNA با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مشخص شد. تشابه به دست آمده از بررسی اطلاعات توالی‌های به دست آمده بر اساس این ژن به خوبی مشخص نمود که درختان چندل خور آذینی از نظر توالی این ژن کاملاً یکسان می‌باشند. بر اساس اطلاعات توالی‌های موجود در شبکه بانک ژن NCBI و توالی ژن مطالعه شده از درختان چندل رویشگاه سیریک، همولوژی بسیار بالایی در حد ۹۹/۹۹ درصد با درختان چندل هندی وجود دارد که نشان از مهاجر بودن گونه چندل در سیریک است. ژنوتیپ‌های جوان، میان‌سال و بالغ گونه چندل در این منطقه نیز کاملاً شبیه به هم بودند و هیچ تفاوتی از نظر توالی ژن 18s rDNA در بین آن‌ها وجود نداشت که نشان دهنده مسیر تکاملی یکسان آن‌ها است.
تاریخچه مقاله: دریافت: ۹۶/۰۹/۲۴ اصلاح: ۹۷/۱۰/۲۷ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۸	
کلمات کلیدی:	
تغذیه	
تنوع ژنتیک	
چندل	
خور آذینی	
گونه مهاجم	
18s rRNA	

مقدمه

مانگروها گیاهان چوبی هستند که در حدفاصل خشکی و دریا در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری زیست می‌کنند (Mobayen, 1975). اجتماعات گیاهی مانگرو در محیط‌هایی به رشد و ادامه زندگی می‌پردازند که شوری بالاست، جزر و مد‌های مکرر محیط را فرا می‌گیرد، گاه طوفان‌های شدید رخ می‌دهد، متوسط دمای سالانه بالاست و شرایط بی‌هوای در بستر رویشگاه وجود دارد. در چنین شرایطی، اغلب گونه‌های گیاهی خاص رویشگاه‌های خشکی، توانایی سازگاری ندارند. لذا،

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: y.esmaeilpour@hormozgan.ac.ir

مانگروها محیط اکولوژیک بی‌همتایی برای اجتماعات غنی از انواع گونه‌ها و زیستگاه و پناهگاه مناسب برای شمار زیادی از موجودات زنده ایجاد می‌کنند (Kathiresan and Bingham, 2001). اهمیت اکولوژیک جنگل‌های مانگرو بیش از آن است که تاکنون شناخته شده است. این جنگل‌ها به نحو مؤثری بر محیط‌های استقرار خود تأثیر می‌گذارند. سیستم ریشه‌ای آن‌ها باعث پایداری رسوبات می‌شود و اجتماعات آن‌ها انرژی امواج را کاهش می‌دهد (Rodriguez and Feller, 2004).
رویشگاه‌های مانگرو ایران در سواحل سه استان ساحلی جنوب ایران به شرح ذیل شناسایی و گزارش شده است و دامنه توسعه جغرافیایی آن‌ها از عرض‌های ۲۵ درجه و ۱۱ دقیقه تا ۲۷ درجه و ۵۲ دقیقه شمالی و طول‌های شرقی ۵۱ درجه و ۳۵ دقیقه تا ۶۱ درجه و ۳۴ دقیقه گسترده است (Ghiyasei, 1988; Sistani, 1990; Hedayati, 1991; Nasouri, 1992; Danehkar, 1994; Safiyari, 2002).

در استان هرمزگان حدود ۸۰ خور شناسایی شده که کمتر از ۲۰ درصد آن‌ها در غرب بندرعباس، حدود ۵۵ درصد بین بندرعباس و سیریک و مابقی در حد فاصل بخش سیریک تا شهرستان جاسک قرار دارند (Safiyari, 1992). کثرت خورهای شرق بندرعباس به پیروی از وضعیت زمین‌شناختی منطقه، موقعیت توپوگرافی و حالت جلگه‌ای اراضی منطقه عرصه مناسبی جهت توسعه خورهای متعدد ایجاد نموده است. از این تعداد خورهای استان هرمزگان تنها در ۱۸ خور رویش‌های مانگرو شناسایی شده است. به این ترتیب استان هرمزگان بیشترین وسعت این اجتماعات گیاهی را نه تنها در کشور، بلکه در کل حوزه خلیج فارس و آب‌های منطقه‌ای (ROMPE)^۱ به خود اختصاص داده است. جنگل‌های مانگرو در استان هرمزگان از غرب به شرق از رویشگاه سایه‌خوش در بندرلنگه آغاز و تا خورهای گابریک و جگین در منتهی‌الیه شرق استان امتداد می‌یابد و هر یک به فراخور وسعت و نوع رویشگاه قطعات متعددی از اجتماعات مانگرو را در برمی‌گیرد (Safiyari and Majnounian, 2002).

این اجتماعات دارای ویژگی‌های انحصاری هستند که در سایر رویشگاه‌های مانگرو کشور دیده نمی‌شود.
مدیریت جنگل‌های مانگرو با هدف بهره‌وری پایدار از خدمات بوم‌شناختی (اکولوژیک) این جامعه‌های گیاهی ساحلی مبتنی بر بررسی دقیق رویشگاه، تعیین ساختار گیاهی و زون‌بندی رویشی، تعیین اهمیت، کارکرد و شیوه حفاظت و بهره‌وری از هر زون است. از آنجا که سیما و نوع اجتماعات جنگل‌های مانگرو از کناره دریا به سمت خشکی تغییر می‌کند شناخت ساختار رویشگاه از دریا به سمت خشکی در تعیین زون‌های وضع ظاهری و ساختار عمومی (فلورستیک و فیزیونومیک) گیاهی، مرزبندی آن‌ها و طرح‌ریزی مدیریتی، دارای اهمیت است (Zahzad and Majnounian, 1997). این در حالی است که هنوز اطلاع دقیقی از منشأ گونه چنند وجود ندارد و هر منبع به فراخور موضوع و حدس و گمان مطلبی را ذکر کرده است، از جمله: (Ghiyasi and Najafi, 1987) با بیان اینکه گونه چنند در ایران در مساحت محدودی و تنها در منطقه سیریک وجود دارد، آن را بومی آنام و ماداگاسکار دانسته‌اند. Danehkar (۱۹۹۴) با ذکر اینکه در پژوهش‌های بسیاری از چنند به‌عنوان یک گونه خارجی نام برده‌اند، بر اساس پرس و جو از مردم محلی، فرضیه خارجی بودن این گونه در ایران را نیازمند تجدیدنظر جدی و شاید قابل طرد خوانده است. در واقع یکی از سوالاتی که تاکنون در زمینه شناخت اکولوژیک جنگل‌های مانگرو مطرح بوده اما پاسخ درخوری نیافته است؛ چرایی محدودیت انتشار جغرافیایی گونه چنند در مانگروهای خلیج فارس و دریای عمان بوده و احتمال وارداتی بودن و دخالت انسان در معرفی این گونه به رویشگاه‌های این منطقه به صورت تصادفی یا عمدی را به ذهن می‌رساند. اگر چنند در منطقه حفاظت شده خور آذینی شهرستان سیریک هرمزگان وارداتی باشد، نقش اکولوژیک آن به عنوان گونه مهاجمی خواهد بود که در حال حذف گونه بومی است. آنچه در مطالعات تنوع ژنتیک گونه چنند باید مورد توجه قرار گیرد تولید بزرگ‌ترین دانه‌ها توسط این گونه نسبت به سایر گونه‌های مانگرو با طولانی‌ترین مدت زنده‌مانی طی دوره شناوری^۲

^۱ منطقه دریایی رامپی پس از انعقاد کنوانسیون کویت بین هشت کشور حاشیه خلیج فارس و دریای عمان (ایران، عراق، کویت، عربستان، قطر، بحرین، امارات متحد عربی و عمان) در سال ۱۹۷۸ و تشکیل سازمان منطقه‌ای حمایت از محیط زیست دریایی در سال ۱۹۷۹ با هدف نظارت بر شرایط زیست محیطی و مدیریت آب‌های کشورهای عضو انتخاب شد و به عنوان یکی از محدوده آب‌های منطقه در سازمان‌های بین‌المللی مرتبط به ثبت رسیده است. پهنه آبی این منطقه تمام خلیج فارس و دریای عمان و دریای عرب را پوشش می‌دهد (دانه‌کار و پوروخشوری، ۱۳۷۷).

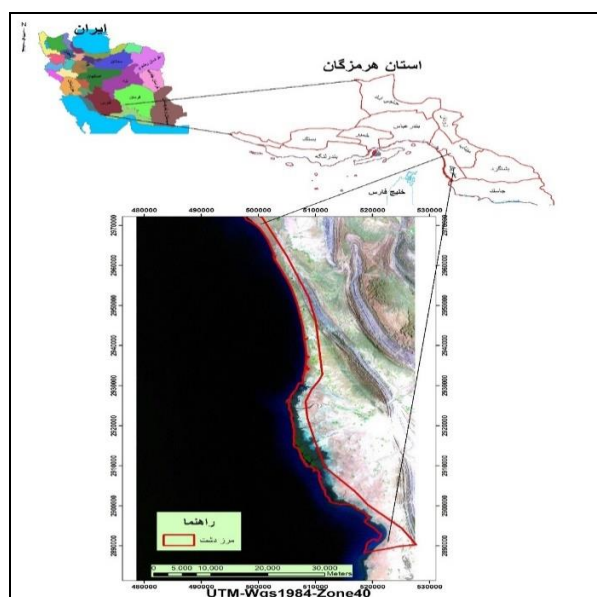
^۲ longest flotation periods

است (Komiya *et al.*, 1992; Drexler, 2001). این موضوع به صورت بالقوه می‌تواند به اختلاط و جریان ژنتیک^۳ بیشتر بین جمعیت‌های چنندل و کاهش تنوع ژنتیک بین این جمعیت‌ها در مقیاس محلی بیانجامد (Drexler, 2001).

مواد و روش‌ها

گونه چنندل *Rhizophora mucronata* Lam. از *Rhizophoraceae* (Ghahraman, 1986) برخلاف حرّاً که در همه رویشگاه‌های مانگرو شاخاب فارس و دریای عمان دیده می‌شود، فقط در سیریک وجود دارد. جمع‌آوری نمونه‌ها، از خورهای منطقه سیریک که در عرض‌های ۲۵ درجه و ۲۵ دقیقه تا ۲۶ درجه ۱۵ دقیقه شمالی و طول‌های ۵۷ درجه و ۴ دقیقه تا ۵۷ درجه و ۸ دقیقه شرقی قرار داشتند، انجام شد (شکل‌های ۱ و ۲). مناطق جمع‌آوری نمونه‌ها، شامل سه توده تفکیک شده در خورها با فاصله جغرافیایی از یکدیگر تعیین شدند. نمونه‌برداری با ۹ تکرار در هر توده در امتداد یک خط نمونه‌برداری از ساحل به درون توده و به صورت تصادفی انجام شد. در هر خط نمونه‌برداری پایه‌های درخت چنندل در سه طبقه سنی که با توجه به اندازه درختان (کوچک، متوسط و بزرگ) تفکیک شدند و از هر طبقه سه پایه به صورت تصادفی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. گستره قطعه نمونه با توجه به اطلاعات و نتایج گزارش شده از تراکم توده‌های خالص و آمیخته اجتماعات چنندل در تحقیق (Khayrandish *et al.*, 2015) گزینش شد.

استخراج DNA با کمی تغییرات به روش تغییر یافته CTAB (Doyle, 1992) انجام شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد و اسپکتروفتومتری با بهره‌گیری از دستگاه نانودراپ ساخت شرکت اپندروف آلمان تعیین گردید. برای استخراج DNA، ۰/۵ گرم از برگ هر نمونه وزن شده و در نیتروژن مایع به طور کامل در هاون‌های مخصوص پودر شد. سپس پودر حاصل، با قاشک‌های استریل به ۵ تیوپ ۲ میلی‌لیتری منتقل شد. مقدار ۸۰۰ میکرولیتر محلول CTAB با دمای ۶۴ درجه سلسیوس به هر کدام از تیوپ‌ها اضافه شد. مقدار ۱۰ میکرولیتر از ماده ۲- مرکاپتواتانول نیز به هر تیوپ اضافه شده و تیوپ‌ها به آرامی در جهت عمودی چندین بار حرکت داده شدند تا مواد با یکدیگر به خوبی مخلوط شوند. سپس به مدت یک ساعت در دمای ۶۵ درجه در حمام بن‌ماری قرار داده و به فاصله هر ۱۰ دقیقه یک‌بار، به آرامی چندبار حرکت داده شدند تا مواد به خوبی با یکدیگر مخلوط گردند. پس از آن مقدار ۸۰۰ میکرولیتر کلروفورم، ایزوآمیل‌الکل به هر کدام از تیوپ‌ها اضافه شد. سپس تیوپ‌ها به مدت ۵ دقیقه به آرامی حرکت داده شده و در دستگاه سانتریفیوژ با ۱۳۰۰۰ دور برای مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس، جدا کردن ۶۰۰ میکرولیتر روشن‌رنگ رویی و انتقال آن به اپندروف ۱/۵



شکل ۱. موقعیت جغرافیایی منطقه‌ی مورد مطالعه در سیریک

³ Gene flow



شکل ۲. موقعیت رویشگاه و توزیع نقاط مورد بازدید و نمونه‌برداری (نقاط شماره ۰۶، ۰۷ و ۰۹)

میلی‌لیتری و افزودن ۴۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول سرد انجام شد و به مدت ۲۰ دقیقه نمونه‌ها در یخچال با دمای ۲۰- درجه قرار داده شد. بعد از آن به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۵۰۰۰ دور در دستگاه سانتریفیوژ قرار گرفتند. پس از آن مایع موجود در تیوپ به آرامی از آن دور ریخته می‌شود. سپس ۴۰۰ میکرولیتر الکل اتانول ۷۰ درصد به هر تیوپ اضافه گردیده و با ۱۳۰۰g برای مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ قرار گرفتند. این مرحله از کار جهت شست و شو انجام گرفت. اتانول را از تیوپ‌ها دور ریخته و تیوپ‌های حاوی کلاف در ته تیوپ‌ها به حالت وارونه روی دستمال نم‌گیر به مدت دو ساعت قرار داده تا اتانول باقی‌مانده از آن کامل تبخیر شده و در انتها مقدار ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر تزریقی به هر تیوپ اضافه شده و در یخچال ۲۰- قرار داده شد. به‌منظور بررسی حضور، ارزیابی خلوص و تعیین غلظت DNA استخراج شده به‌ترتیب از دستگاه نانودرآپ و الکتروفورز روی ژل یک درصد آگارز استفاده شد (Sambrook *et al.*, 1989).

برای ارزیابی خلوص و تعیین غلظت DNA از دستگاه نانو درآپ مدل (نانو-۲۰۰، نوکلئواسید آنالیز، ورژن ۱/۰) استفاده شد. ژن 18srDNA یک ژن حفاظت شده می‌باشد. با در نظر گرفتن قواعد کلی، طراحی آغازگر برای این ژن توسط نرم افزار DNAMAN صورت گرفت. تعیین دمای بهینه اتصال، سازگار بودن جفت آغازگرهای طراحی شده، تشکیل دایمر پرایمر و عدم حضور لوپ در آغازگرها به کمک نرم‌افزار Fast-PCR مورد بررسی قرار گرفت. اسامی آغازگرهای طراحی شده به‌همراه توالی نوکلئوتیدی آن‌ها در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن 18srDNA از گیاه چنل. جفت پرایمر اول با طول ۹۲۵bp و جفت پرایمر دوم قطعه دوم به طول ۶۸۷ bp را تکثیر نمودند.

ردیف	نام آغازگر	توالی آغازگر (۳' → ۵')	درصد GC	دمای ذوب
۱	Forward primer 1	CAGACTGTGAAACTGCGAATGGC	52.2	59.9
۲	Reverse primer 1	CGTCTTCGAGCCCCCAACTTTC	60.9	63.1
۳	Forward primer 2	GAAAGTTGGGGGCTCGAAGACG	60.9	63.1
۴	Reverse primer 2	CATTCAATCGGTAGGAGCGACGG	56.5	60.6

⁴ Nano-200. Nucleic Acid Analyzer. Version 1.0

برای انجام واکنش PCR از دستورالعمل آنتورپ و همکاران، (۲۰۰۶)، با اندکی تغییرات استفاده شد. تمامی مواد مورد استفاده برای PCR، به جز DNA و آب مقطر، به صورت میکروتیوپ‌های تجاری از شرکت پیشگام تهیه شدند. برای هر مخلوط واکنش، مقدار یک میکرولیتر از DNA تهیه شده با غلظت ۵ نانوگرم بر میکرولیتر به ۲۴ میکرولیتر از مخلوط اجزای واکنش اضافه گردید. حجم محلول واکنش در نهایت به ۲۵ میکرولیتر رسید و این مخلوط واکنش ۲۵ میکرولیتری برای انجام PCR مورد استفاده قرار گرفت.

با استفاده از ترموسایکلر از نوع BIO RAD مدل T100 Thermal Cycler، واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرازی PCR با یک مرحله ابتدایی واسرشت رشته‌های DNA به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد شروع و در ادامه با ۳۵ چرخه تکثیر با برنامه ۴۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه دمای اتصال هر جفت پرایمر (۵۰ درجه سانتی‌گراد برای جفت پرایمر اول و ۵۵ درجه سانتی‌گراد برای جفت پرایمر دوم) متغیر بود، ۱ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در نهایت بعد از انجام این ۳۵ چرخه تکثیر رشته‌های DNA، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه داده شد تا تولیدسازی رشته‌هایی که به صورت کامل در فرصت قبلی انجام نشده صورت پذیرد.

خالص‌سازی محصول PCR از ژل با استفاده از کیت Topaz Iran (mini-prep), TOP Gel Recovery Kit انجام شد. نمونه‌ها برای توالی‌یابی به شرکت MacroGen در کشور کره جنوبی ارسال شد. نتایج حاصل از تعیین توالی‌یابی با فرمت الکتروگرام Chromas با استفاده از نرم‌افزار Chromas Version 1.41 مورد بررسی قرار گرفتند. توالی‌ها به شکل فایل‌هایی با فرمت FASTA.test آماده و سپس با توالی‌های موجود در بانک ژن در شبکه NCBI^۵ مقایسه شدند.

نتایج

آنالیز ژنتیکی ژنوتیپی از نظر ژن‌های 18s rDNA

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از جفت پرایمرهای طراحی شده ۱ و ۲، دو قطعه از DNA را تکثیر نمودند. توالی‌یابی دو قطعه حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز صورت پذیرفت. طول قطعه اول توالی‌یابی شده از طرف ۵' ژن 18s rDNA گونه چنڈل در منطقه حفاظت شده خورآذینی شهرستان سیریک هرمزگان 870 bp بود. طول قطعه دوم توالی‌یابی شده از طرف ۳' ژن 18s rDNA این گونه 677 bp بود (شکل ۳).

طول کل قطعه توالی‌یابی شده بعد از حذف قسمت همپوشان (۳۰ bp)، از طرف ۵' قطعه دوم ۱۵۱۷ bp بود (شکل ۴). ژن توالی‌یابی شده با شماره دسترسی KX171207 در بانک ژن جهانی ثبت گردید.

ژنوتیپ‌های جوان، میان‌سال و بالغ گونه چنڈل در سیریک کاملاً شبیه به هم بودند و هیچ تفاوتی از نظر توالی ژن 18s rDNA در بین آن‌ها وجود نداشت. بر اساس ماتریس فاصله، کمترین فاصله ژنتیکی بین گونه چنڈل خور آذینی سیریک با گونه‌های *Rhizophora mucronata* Lam. و *Rhizophora stylosa* Griff. با فاصله ۰/۰۰۱ وجود داشت. بیشترین فاصله ژنتیکی بین گونه چنڈل خور آذینی سیریک با هیبرید *Rhizophora × annamalayana* Kathiresan با فاصله ۰/۰۰۳ دیده شد (شکل ۵). به منظور بررسی وجود یا عدم وجود قرابت بین گونه‌ها درخت فیلوژنی رسم گردید. بر اساس نتایج حاصل از بررسی قرابت و تشابه توالی ژن 18s rDNA در گونه‌های مورد مقایسه مشخص شد که سه ژنوتیپ: چنڈل خور آذینی سیریک، *Rhizophora mucronata* from India و *Rhizophora stylosa* Griff. با کمترین فاصله ژنتیکی ۰/۰۰۱ در یک خوشه یا کلاس قرار گرفتند و گونه *R. × annamalayana* Kathiresan با فاصله ژنتیکی ۰/۰۰۳ نسبت به گونه سیریک و ۰/۰۰۲ نسبت به جمعیت‌های چنڈل هندی و *Rhizophora stylosa* Griff. به عنوان OUT groups در خوشه جداگانه قرار گرفت (شکل ۶).

⁵ <http://ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>

A:

5'AGTTTGTGGATGGTACCTGCTACTCGGATAACCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACGTGCAACAA
 ACCCCGACTTCCGGAAGGGATGCATTTATTAGATAAAAGGTCGACGCGGGCTACGCCCGTTGCTCT
 GATGATTCATGATAACTCGACGGATCGCACGGCCAACGTGCCGCGACGCATCATTCAAATTTCTG
 CCCTATCAACTTTCGATGGTAGGATAGAGGCCTACCATGGTGGTGACGGGTGACGGAGAATTAGG
 GTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAA
 ATTACCCAATCCTGACACGGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATACCGGGCTCTTACGAGTCTGG
 TAATTGGAATGAGTACAATCTAAATCCCTTAACGAGGATCCATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGC
 AGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGG
 ACCTTGGGATGGGTCGATCGGTCGGCCTTTGGTGTGCATCGGTGCGCTCGTCCCTTCTACCGCGAT
 GCGCTCTGGCCTTAGTTGGACCGGGTCGTGCGCTCCGGTGCTGTTACTTTGAAGAAATTAGAGTGCT
 CAAAGCAAGCCTACGCTCTGGATACATTAGCATGGGATAACATCATAGGATTTTCGATCCTATTGTG
 TTGGCCTTCGGGATCGGAGTAATGATTAACAGGGACAGTCGGGGGCATTTCGATTTTCATAGTCAGA
 GGTGAAATTTCTGGATTTATGAAAGACGAACAACACTGCGAAAGCATTTCGCAAAGGATGTTTTATA
 AATCAAGAACGAA3'

B:

5'CCAAGGATGTTTTATTAATCAAGAACGAAAGTTGGGGGCTCGAAGACGATCAGATACCGTCCT
 AGTCTCAACCATAAACGATGCCGACCAGGGATCGGCGGAAGTTGCTTTTAGGACTCCGCCGGCACC
 TTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAAACTTAAAGGAA
 TTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAAACTTA
 CCAGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGACTGATAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGC
 ATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGCGATTTGTCTGGTTAATCCGTTAACGAACGAGACCTCAGCCTG
 CTAAGTACTAGCTATGCGGAGGTGATCCTCCGTGGCCAGCTTCTTAGAGGGACTATGGCCTTCTAGGCC
 AAGGAAGTTTGAGGCAATAACAGGCTGTGTATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACGCGCGCTACA
 CTGATGTATTCAACGAGTCTATAGCCTTGGCCGACAGGCCCGGTAATCTTTGAAATTTTCATCGTG
 ATGGGGATAGATCATTGCAATTGTTGGTCTTCAACGAGGAATTCCTAGTAAGCGCGAGTCATCAGC
 TCGCGTTGACTACGTCCCTG3'

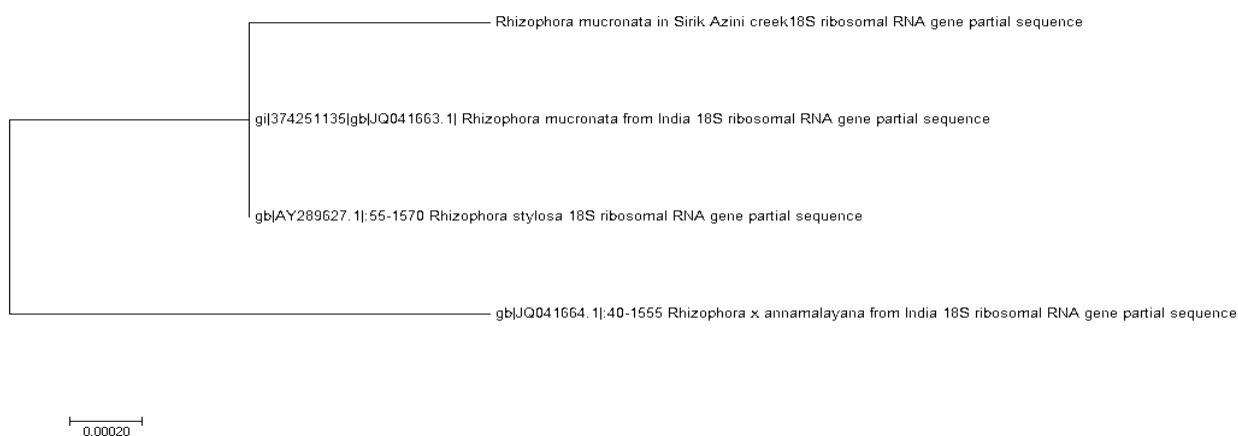
شکل ۳. توالی قطعات به دست آمده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن 18S rDNA. A: توالی قطعه اول از طرف ۵' ژن 18S rDNA گونه چنل در منطقه حفاظت شده خور آذینی شهرستان سیریک هرمزگان (870 bp). B: توالی قطعه دوم توالی‌یابی شده از طرف ۳' ژن 18S rDNA این گونه (677).

	1	2	3	4
1. <i>Rhizophora mucronata</i> in Sirik Azini creek 18S ribosomal RNA gene partial sequence				
2. gi 374251135 gb JQ041663.1 <i>Rhizophora mucronata</i> from India 18S ribosomal RNA gene partial sequence	0.001			
3. gb AY289627.1 :55-1570 <i>Rhizophora stylosa</i> 18S ribosomal RNA gene partial sequence	0.001	0.000		
4. gb JQ041664.1 :40-1555 <i>Rhizophora x annamalayana</i> from India 18S ribosomal RNA gene partial sequence	0.003	0.002	0.002	

شکل ۵. ماتریس فاصله بین گونه چنل خور آذینی سیریک و گونه‌های چنل *Rhizophora mucronata*، *Rhizophora stylosa* Griff. و *Rhizophora x annamalayana* Kathiresan *from India*

5'AGTTTGTGGATGGTACCTGCTACTCGGATAACCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACGTGCAACAAAC
 CCCGACTTCCGGAAGGGATGCATTTATTAGATAAAAAGGTCGACGCGGGCTACGCCCGTTGCTCTGATG
 ATTCATGATAACTCGACGGATCGCACGGCCAACGTGCCGGCGACGCATCATTCAAATTTCTGCCCTAT
 CAACTTTTCGATGGTAGGATAGAGGCTACCATGGTGGTGACGGGTGACGGAGAATTAGGGTTCGATT
 CCGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAA
 TCCTGACACGGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATACCGGGCTCTTACGAGTCTGGTAATTGGAAT
 GAGTACAATCTAAATCCCTAACGAGGATCCATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTA
 TTCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGACCTTGGGATGGG
 TCGATCGGTCCGCTTTGGTGTGCATCGGTCGCCTCGTCCCTTCTACCGGCGATGCGCTCCTGGCCTTA
 GTTGGACCGGGTCTGCCTCCGGTGTGTTACTTTGAAGAAATTAGAGTGCTCAAAGCAAGCCTACGC
 TCTGGATACATTAGCATGGGATAACATCATAGGATTTTCGATCCTATTGTGTTGGCCTTCGGGATCGGA
 GTAATGATTAACAGGGACAGTCGGGGGCATTCGTATTTTCATAGTCAGAGGTGAAATTCCTGGATTTAT
 GAAAGACGAACAACACTGCGAAAGCATTTGCCAAAGGATGTTTTTCATAAATCAAGAACGAAAGTTGGGG
 GCTCGAAGACGATCAGATACCGTCTAGTCTCAACCATAAACGATGCCGACCAGGGATCGGCGGAAG
 TTGCTTTTAGGACTCCGCCGGCACCTTATGAGAAATCAAAGTCTTTGGGTTCCGGGGGGAGTATGGTC
 GCAAGGCTGAAACTTAAAGGAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGAGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTG
 ACTCAACACGGGGAAACTTACCAGGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGACTGATAGCTCTTTCTTG
 ATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGCGATTTGTCTGGTTAATTCGGTTAACG
 AACGAGACCTCAGCCTGCTAACTAGCTATGCGGAGGTGATCCTCCGTGGCCAGCTTCTTAGAGGGACT
 ATGGCCTTCTAGGCCAAGGAAGTTTGGAGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCG
 CACGCGCGCTACACTGATGTATTCAACGAGTCTATAGCCTTGGCCGACAGGCCCGGTAATCTTTGAA
 ATTTTCATCGTGATGGGGATAGATCATTGCAATTGTTGGTCTTCAACGAGGAATTCCTAGTAAGCGCGA
 GTCATCAGCTCGCGTTGACTACGTCCTG3'

شکل ۴. توالی کل قطعه توالی‌یابی شده بعد از حذف قسمت همپوشان (۳۰ bp)، از طرف ۵' قطعه دوم (۱۵۱۷ bp).



شکل ۴. درخت فیلوژنی بین گونه چندل خور آذینی سیریک و چند گونه چندل بر اساس توالی ژن 18s rDNA. این درخت شامل دو خوشه یا کلاستر می‌باشد در کلاستر اول با فاصله ژنتیکی ۰/۰۰۱ سه ژنوتیپ: چندل خور آذینی سیریک، *Rhizophora stylosa* Griff و *Rhizophora mucronata* from India قرار دارند و در خوشه دوم با فاصله ژنتیکی ۰/۰۰۳ نسبت به گونه سیری، گونه *R. x. annamalayana* Kathiresan قرار گرفت. میله یا بار فاصله ژنتیکی را نشان می‌دهد

بحث

ژن 18s rDNA از ژن‌های حفاظت شده بین گونه‌ها هستند که به عنوان استاندارد دی جهت تشخیص وجود یا عدم وجود قرابت بین گونه‌ها و شناخت گونه‌های جدید گیاهی استفاده می‌شود (Williams et al., 1990). تشابه به دست آمده از بررسی اطلاعات توالی‌های به دست آمده بر اساس این ژن به خوبی مشخص می‌کند که درختان چندل خور آذینی از نظر توالی این

ژن کاملاً یکسان می‌باشند و از لحاظ این ژن با درختان چندل هندی همولوژی بسیار بالایی در حد ۹۹/۹۹ درصد داشته که نشان از مهاجر بودن این گونه است. در تحقیقی مشابه توسط (Salve *et al.*, 2013) در سال ۲۰۱۳ از ژن 18s rDNA به‌عنوان یک نشانگر مهم مولکولی در تشخیص روابط تاکسونومی گیاهان استفاده شد. ایشان ژن 18s rDNA از *Excoecaria agallocha* با طول قطعه ۱۶۵۹ جفت باز را جداسازی، کلون، توالی‌یابی و با سایر گونه‌های مانگرو مقایسه و ارزیابی نمودند. آن‌ها مشخص نمودند که این ژن دارای درصد بازی ۵۰٫۸ برای نوکلوتیدهای GC می‌باشد و دارای ۳۷۸ آدنین، ۴۶۴ گوانین، ۴۱۶ تیمین و ۳۷۸ سیتوزین بوده است آنالیز فیلوژنی این ژن مشخص نمود این گونه شباهت بالایی با گونه‌های *Rhizophora stylosa* و *Xylocarpus granatum* دارد. بر اساس تحقیق حاضر بر پایه تشابه بالا از نظر ژن 18s rDNA چندل در منطقه حفاظت شده خورآذینی شهرستان سیریک هرمزگان، وارداتی باشد. هر چند که مطالعات کامل‌تری بر اساس سایر تکنیک‌های مولکولی نظیر AFLP، RFLP، SSR بایستی در جهت تأیید این تحقیق صورت گیرد.

بر پایه این تحقیق بایستی نقش اکولوژیک چندل به‌عنوان گونه مهاجم در منطقه سیریک مورد مطالعه قرار گیرد و تأثیرات این گونه وارداتی بر اکوسیستم منطقه ارزیابی گردد و از جنبه‌های زیست‌محیطی مطلوب آن نظیر زیستگاه مناسب پرندگان و جانوران مختلف، ظرفیت فتوسنتزی بالا، شناخته شدن به‌عنوان یک عامل ضد فرسایش و زیبایی اکوتوریستی حداکثر بهره‌گیری و حمایت انجام شود و از طرف دیگر اثرات مخرب زیست‌محیطی آن نظیر حذف گونه‌های بومی را به حداقل رساند.

منابع

- Danehkar, A. 1994. Investigation of Sirik region Mangroves, Thesis of Master's Degree of Forestry. Tarbiat Modarres University, Faculty of Natural Resources, Noor. 174 p. (in Persian)
- Doyle, J.J. 1992. Gene trees and species trees: molecular systematics as one-character taxonomy. *Systematic Botany*. pp.144-163.
- Drexler, J.Z. 2001. Maximum longevities of *Rhizophora apiculata* and *R. mucronata* propagules. *Pacific Science*. 55(1): 17-22.
- Ghahraman, A. 1986. Illustrated Flora of Iran. Volume 8, Slide No. 1000, Forests and Rangelands Research Institute of Iran, Tehran. 250 p. (in Persian)
- Ghiyasei, N. 1988. Sea halophytes. Forestry in tropical and semi-tropical regions Seminar. Bandarabbas. (in Persian)
- Ghiyasi, N., Najafi, K. 1987. Report of Sirik Mangrove habitat, Forestry and Rangeland Research Station, Hormozgan, Bandar Abbas. (in Persian)
- Hedayati, M.A. 1991. Coastal shores from Daylam to Gowatr, Forests, Rangelands and Watershed management Department, Forestry and Parks Office, Chalus. (in Persian)
- Kathiresan, K., Bingham, B.L. 2001. Biology of mangroves and mangrove ecosystems. *Advances in Marine Biology*. 40: 81-251.
- Khayrandish, H., Esmailpour, Y., Kamali, A.R., Zakeri, O. 2015. Locating suitable areas for mangrove afforestation in the Sirik habitat, Hormozgan Province. *Journal of Aquatic Ecology*. 5(2):112-123. (in Persian)
- Komiyama, A., Chimchome, V., Kongsangchai, J. 1992. Dispersal patterns of mangrove propagules: a preliminary study on *Rhizophora mucronata*. *Research Bulletin of the College of Agriculture, Gifu University*. 57: 27-34.
- Mobayen, S. 1975. The characteristics of vegetation cover of Iran. Appendix of *Journal of Environmental Studies*. 3: 29-35. (in Persian)
- Nasouri, M. 1992. Production, cultivation and development of mangrove seedlings. Natural Resources Department of Hormozgan Province, Bandar Abbas. 25 p. (in Persian)
- Rodriguez, W., Feller, I.C. 2004. Mangrove landscape characterization and change in Twin Cays, Belize using aerial photography and IKONOS satellite data. *Atoll Research Bulletin*. No. 513, National museum of natural history, Smithsonian institution, Washington D.C., U.S.A., September 2004.

- Safiyari, Sh., Majnounian, H. 2002. Mangrove forests. Forests and Rangelands Research Institute of Iran. (in Persian)
- Safiyari, Sh. 1992. Mangrove plants. Forests and Rangelands Research Institute of Iran. No. 81, Tehran. (in Persian)
- Safiyari, Sh. 2002. Mangrove forests, Volume II: Mangrove forests in Iran. Forests and Rangelands Research Institute of Iran. No. 1381: 314, Tehran 539. (in Persian)
- Salve, P., Potkar, V.R., Jadhav, P.S. 2013. Phylogenetic Analysis of *Excoecaria Agallocha* Using 18S Nuclear Ribosomal Gene. International Journal for Pharmaceutical Research. 2(4): 503-506.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual (No. Ed. 2). Cold Spring Harbor Lab Press, U.S.A.
- Sistani, D. 1990. Ecological evaluation of Hara wetland forests. Environmental Assessment Office. Department of Environment, Research Report. (in Persian)
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research. 18(22): 6531-6535.
- Zahzad, B., Majnounian, H. 1997. Harra protected zone (Biosphere Reserve). Department of Environment of Hormozgan Province. 69 p. (in Persian)